

# 大豆炭腐病病原菌鉴定

张吉清, 崔友林, 段灿星, 武小菲, 王晓鸣, 朱振东

(中国农业科学院 作物科学研究所, 国家农作物资源与基因改良重大工程, 北京 100081)

**摘要:** 为有效防治大豆炭腐病, 对最近在北京和天津两块大豆田发生的疑似大豆炭腐病病原菌进行了鉴定。在 PDA 培养基病原菌上分离物生长较快, 菌落灰色, 产生大量直径为  $49.8 \sim 111.4 \mu\text{m}$  的黑色菌核。接种表明, 选择的 5 个分离物对大豆品种合丰 25 的幼苗致病, 且各分离物从病株上重新分离率为 100%。用通用引物 ITS4/ITS5 扩增 5 个分离物的 rDNA-ITS 序列区和测序, 通过与 Genbank 数据库比对, 5 个分离物与菜豆壳孢菌分离物序列的相似性为 97%~99%。用菜豆壳孢菌的特异性引物 MpKF1/MPKR1 进行检测, 在 5 个分离物中均扩增出 350 bp 的特征片段。基于病害症状、病原菌形态、致病性和分子特征, 鉴定这 5 个分离物为菜豆壳孢菌。该病害在华北地区尚属首次报道。

**关键词:** 大豆; 炭腐病; 菜豆壳孢菌; 鉴定

中图分类号: S435.651 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2009)05-0192-05

## Identification of Pathogen Causing Soybean Charcoal Rot

ZHANG Ji-qing, CUI You-lin, DUAN Can-xing, WU Xiao-fei,  
WANG Xiao-ming, ZHU Zhen-dong

(Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agriculture Sciences, the National Key  
Facilities for Crop Genetic Resources and Improvement, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Charcoal rot, causing by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid is an important soybean disease in the world. In late August 2005 and 2007, symptoms of charcoal rot-like were observed on soybean plants in one field in Tianjin and Beijing, respectively. Both fields had more than 80% disease incidence, with extensive premature death prior to pod-filling stage. Fungal isolations were made from the diseased stem tissue in order to identify the causal agent. Five resulting isolates were cultured on potato dextrose agar at  $30^{\circ}\text{C}$ , and were identified as *M. phaseolina* based on the gray color of the colony and the presence of microsclerotia  $49.8$  to  $111.4 \mu\text{m}$  in size. Pathogenicity was performed by inoculation of 2-week-old seedlings of cv. Hefeng 25 using hypocotyl inoculation and cut stem techniques. All inoculated plants showed dark brown to black lesions. For each isolate tested, *M. phaseolina* was reisolated from inoculated plants. To confirm the morphological identification, the rDNA-ITS region of the five isolates was amplified with universal primer ITS4 and ITS5. The obtained ITS sequences (one sequence GenBank accession No. FJ175382) were aligned with GenBank and showed 97%—99% similarity with isolates of *M. phaseolina*. PCR specific primers MpKF1 and MPKR1 for *M. phaseolina* were used to detect genome DNA of the five isolates, the primers produced single amplified product of 350 bp with the five isolates, and the results confirmed them as *M. phaseolina*. Up to now, only two notes about its occurrence were published in Liaoning Province and Shandong Province, and the causing pathogen did not have been identified. This is the first report of occurrence of charcoal rot of soybean in Northern China.

**Key words:** *Glycine max*; Charcoal rot; *Macrophomina phaseolina*; Identification

由菜豆壳孢菌 (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.) 引起的大豆炭腐病是大豆的重要病害之

收稿日期: 2009-05-05

基金项目: 中国农业科学院作物科学研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(082060302-06)

作者简介: 张吉清(1984-), 女, 山东济南人, 硕士, 主要从事植物病理学研究。

通讯作者: 朱振东(1965-), 男, 湖南慈利人, 博士, 研究员, 主要从事大豆病害及抗性研究。

一。该病广泛发生在世界各大豆产区, 在热带地区, 病原菌引起幼苗枯死, 植株死亡可高达 77%<sup>[1, 2]</sup>; 在开花始期后, 大豆植株受炎热、干燥气候等不利环境条件胁迫时产生炭腐病症状, 萎蔫和枯死, 可造成严重的产量损失和降低品质<sup>[3-6]</sup>。大豆是我国重要的粮油作物, 具有悠久的栽培历史。但是, 大豆炭腐病在我国鲜有报道, 仅吕国忠等<sup>[7]</sup>和李宗乾等<sup>[8]</sup>分别简要报道了该病在辽宁省和山东省个别田块发生为害情况。

2005 年和 2007 年 8 月下旬, 我们分别在天津市郊区和中国农业科学院作物科学研究所试验农场的一块大豆田中发现大量植株鼓荚前萎蔫和枯死, 死亡率在 80% 以上。根据症状初步判断该病害与国外报道的大豆炭腐病相似。本研究对引起该病的病原菌进行了鉴定。

## 1 材料和方法

### 1.1 病原菌分离

在发病田采集典型病株, 用常规组织分离法分离病原菌。在茎秆病健交界处切取 10 mm<sup>2</sup> 的组织或切取带有微菌核的髓组织, 先用 2% 的次氯酸钠溶液消毒 1 min, 再用无菌水漂洗 3 次并用无菌吸水纸吸干, 最后接种在 pH 值为 4.5 的酸化 PDA 培养基上, 在 25℃ 条件下培养。2~3 d 后从病组织长出的菌落挑先端菌丝转到酸化 PDA 培养基上进行纯化。纯化的分离物转入 PDA 培养基上繁殖和保存。

### 1.2 病原菌形态鉴定

在初步鉴定的基础上, 选 5 个代表分离物进行形态学鉴定, 编号为 Mp1~Mp5。分离物在 PDA 培养基上 30℃ 黑暗条件下培养, 观察病原菌菌落形态和产生微菌核的情况。培养 15 d 后测量微菌核的大小。自然条件下产生微菌核的大小取病株髓组织中微菌核进行测量。

### 1.3 致病性测定

分别采用了下胚轴接种法<sup>[9]</sup>和上切茎法<sup>[10]</sup>接种至大豆品种合丰 25 的幼苗, 测定 5 个分离物的致病性。取合丰 25 种子播种在以蛭石:草炭:无菌土(1:2:1)混合物为培养基质的直径为 10 cm 的塑料钵中, 每钵 10~12 粒。播种后置于温室培养, 12 d 后每钵间苗至 5 株用于接种。接种体制备参照 Thickett 等<sup>[11]</sup>方法。分离物先在 PDA 上 30℃ 黑暗条件下培养 5 d, 然后在无菌条件下向培养皿中加入 10 mL 的无菌水, 用灭菌的解剖刀轻轻刮落菌丝体, 混匀配制成菌丝悬浮液, 取 0.5 mL 悬浮液均匀涂抹到含 1.5% 琼脂的 PDA 培养基上, 30℃ 黑暗条件下

培养 5 d, 然后用注射器将培养物混匀用于接种。下胚轴接种法为用针尖在大豆子叶下 0.5 cm 处向下划约 0.8 cm 长的伤口, 然后将接种体注于伤口处。上切茎法接种方法为切去大豆植株子叶以上 5 cm 部分, 然后用接种体覆盖伤口处。每个分离物接种 3 钵, 以创伤不接种植株为对照。接种后, 植株在喷雾保湿间保湿 48 h, 相对湿度 85%~100%, 温度 28~30℃。保湿后, 接种植株转入 28~35℃ 温室培养。接种 21 d 后进行病害调查, 并选择部分发病植株进行病原菌分离和鉴定。

### 1.4 病原菌分子鉴定

1.4.1 DNA 提取 分离物在马铃薯葡萄糖液体培养基中 30℃ 黑暗条件下振荡培养 10 d。菌丝体用真空过滤器收集。基因组 DNA 提取采用改进的尿素提取法<sup>[12]</sup>。

1.4.2 ITS 区域扩增与测序 用 ITS 通用引物 ITS4/ITS5(上游引物为: 5'-TCCTCCGCTTAT TGATAT-GC-3'; 下游引物为: 5'-GGAAGTAAAA GTCGTAA-CAAGG-3')扩增分离物基因组 DNA<sup>[13]</sup>。PCR 反应体系为 50 μL, 其中含 5 μL 10× Buffer 和 2.5 U *Taq* 聚合酶, 0.2 mmol dNTPs, 引物各 10 pmol, 模板 DNA 为 10 ng, 用 ddH<sub>2</sub>O 标定到 50 μL。PCR 扩增程序为: 96℃ 预变性 3 min, 然后 39 个循环: 95℃ 变性 1 min, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 80 s; 最后 72℃ 延伸 10 min。扩增产物在恒压 150 V、2% TBE 琼脂糖凝胶电泳检测。利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(北京天根生化科技有限公司)回收 5 个分离物目标片段。纯化后由北京三博远志生物技术有限公司测序。将测序获得的分离物 ITS 序列直接在 NCBI 网站进行 Blast 比对分析并提交序列。

1.4.3 特异性引物检测 用菜豆壳球孢菌的特异性引物 MpKF1(5'-CCGCCAGAGGACTATCAAAC-3')/MPKR1(5'-CGTCCGAAGCGAGGTGTATT-3')对分离物进行检测, 方法参考 Babu 等<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 病害症状

2005 年 8 月下旬, 天津市市郊发病的大豆田为生产田, 品种早熟, 名称未知, 正值开花结荚期。2007 年 8 月下旬, 北京市中国农业科学院作物科学研究所试验农场发病的大豆田为大豆资源圃, 种植的是由俄罗斯引进的 100 多份大豆种质资源, 所有资源正值开花后期到鼓荚期。两块大豆田发病的症状相同, 植株出现早衰和死亡, 死亡率均在 80% 以上。罹病大豆植株叶片黄化、脉间组织坏死变褐、最

后萎蔫和枯死,但附着在叶柄上不脱落,叶柄保留在茎秆上不脱落(图 1-A, B)。根部早期被侵染,在大豆生殖期病斑从地表向上扩展到茎秆表面,亮灰色或银灰色;适宜条件下,病原菌也可以直接侵染下部茎秆,在茎节处产生病斑;发病后期,萎蔫株茎秆较上部位、一些分枝和叶柄上也有银灰色病斑产生(图 1-C)。在萎蔫植株主根和下部茎秆的表皮、下表皮和维管束组织及髓部产生大量的黑色球形微菌核(图 1-D, E)。在主根维管束组织里,病原菌侵染导致微红褐色的变色,并沿茎秆向上发展,引起茎和维管束组织的变色,纵向劈开主根,在根冠木质部可见黑色条纹(图 1-F)。

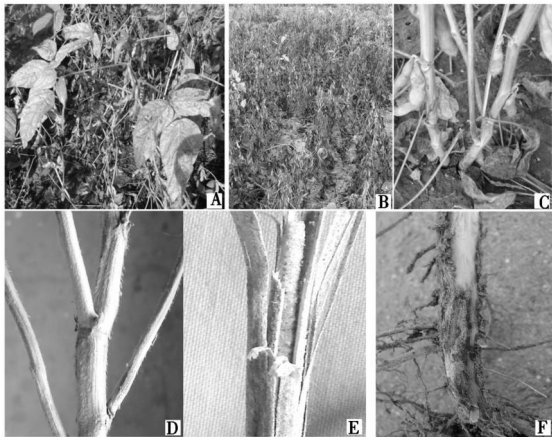


图 1 *Macrophomina phaseolina* 引起的大豆炭腐病害症状  
Fig. 1 The symptoms of charcoal rot of soybean caused by *Macrophomina phaseolina*

## 2.2 病原菌分离物及形态鉴定

初步研究表明所有分离物在 PDA 培养基菌落形态一致,均产生黑色菌核。选择 5 个分离物建立单菌核分离物后进一步进行形态学和生物学鉴定。在 PDA 培养基上,分离物生长迅速,菌落圆形,初为白色,气生菌丝较发达,随着培养时间延长,菌落颜色变深至灰色,老熟后呈黑色,并产生大量菌核。菌核为黑色、圆形至椭圆形或不规则形,大小为 49.8 ~ 111.4  $\mu\text{m}$ ,平均为 68.6  $\mu\text{m}$ 。自然条件下,病株组织中微菌核呈规则圆形,直径大小为 47.2 ~ 86.0  $\mu\text{m}$ ,平均为 61.6  $\mu\text{m}$ 。在自然发病大豆组织和培养条件下没有发现产生分生孢子器。基于分离物在培养基上产生灰色菌落和形成黑色微菌核的特征,初步将分离物鉴定为菜豆壳孢菌。

## 2.3 致病性测定

5 个分离物接种合丰 25 大豆幼苗均导致 100% 植株发病。植株受侵染后接种部位最初呈失水状,渐变褐色,萎缩。上切茎接种,发病植株病斑向下扩展至子叶,导致整个植株死亡,但子叶不脱落;下胚轴接种,病斑向下扩展至根部和向上扩展至子叶及

上部茎秆,染病茎秆萎缩至干枯,植株死亡。对照植株没有病斑扩张,生长正常。选择部分发病植株上再进行分离病原菌,目标分离物获得率为 100%。21 d 后调查植株死亡率,通过方差分析,在 0.05 的置信水平下,5 个分离物对合丰 25 大豆品种致病力存在极显著差异(表 1)。

表 1 *Macrophomina phaseolina* 对合丰 25 大豆幼苗的致病性  
Tab. 1 The pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* on seedlings of cv. Hefeng25

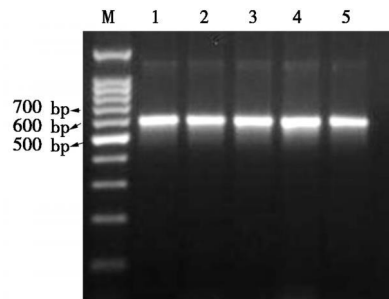
分离物 Isolate	植株死亡率 % Dead plants rate	
	切茎法	下胚轴接种法
	Cut stem test	Hypocotyl inoculation
Mp1	30E	50C
Mp2	80B	80B
Mp3	75C	100A
Mp4	50D	100A
Mp5	100A	80B
平均值 Average	67	82

注: <sup>a</sup>. 邓肯新复极差测验 ( $P=0.05$ ).  
Note: <sup>a</sup>. Means were compared with Duncan's multiple range test at the 0.05 probability level.

## 2.4 ITS 序列分析和种特异性标记检测

用 rDNA-ITS 通用引物 ITS4/ITS5 对 5 个分离物基因组 DNA 进行 PCR 扩增,扩增产物电泳检测结果见图 2。引物 ITS4/ITS5 在 5 个分离物中均扩增出大小为 600 bp 左右的单一片段。将扩增产物进行回收、克隆和测序。5 个分离物扩增产物片段大小为 544 bp,包含有完整的 5.8 S rDNA,将分离物 Mp3 序列提交到 GenBank,获得登录号为 FJ175382。将获得的 5 个分离物序列在 NCBI 网站进行 Blast 分析,与 19 个 *M. phaseolina* 分离物的相似性为 97% ~ 99%。

用 Babu 等<sup>[14]</sup>建立的 *M. phaseolina* 的特异性引物 MpKF1/MPKR1 扩增 5 个分离物的基因组 DNA,该引物在 5 个分离物均扩增出大小为 350 bp 的特异片段(图 3)。



M. DNA ladder; 1~5. 分离物 Mp1, Mp2, Mp3, Mp4 和 Mp5。下同。  
M. DNA ladder; 1~5. Isolates Mp1, Mp2, Mp3, Mp4 and Mp5.  
The same as Fig. 3.

图 2 通用引物对 ITS4/ITS5 对 5 个 *Macrophomina phaseolina* 分离物的扩增结果  
Fig. 2 PCR amplification of five isolates of *Macrophomina phaseolina* with primers ITS4/ITS5

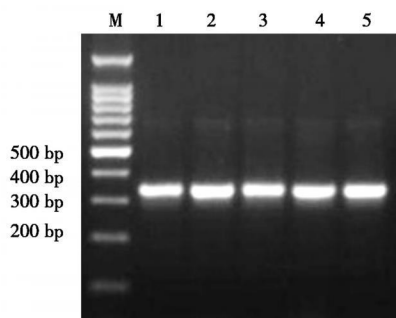


图3 *Macrophomina phaseolina* 特异性引物  
对 MpKF1/ MpKR1 对 5 个分离物的扩增结果

Fig. 3 PCR amplification of five isolates using species-specific primers MpKF1/ MpKR1 of *Macrophomina phaseolina*

### 3 讨论

本研究对最近在天津和北京两块大豆田发生的疑似大豆炭腐病原菌进行了鉴定。病原菌分离物在 PDA 培养基上生长迅速、菌落灰色到黑色和产生丰富的菌核。这些特征与 Smith 和 Wyllie<sup>[1]</sup> 描述的大豆炭腐病原菌结果一致。ITS 区域测序结果表明, 5 个分离物序列与 Genbank 中 *M. phaseolina* 分离物序列的相似性为 97%~99%。此外, *M. phaseolina* 种特异性引物在 5 个分离物中均扩增 350 bp 特异性片段, 与 Babu 等<sup>[14]</sup> 结果一致。致病性测定表明, 5 个分离物可导致大豆合丰 25 品种 100% 的发病, 且分离物间存在致病力的显著差异。*M. phaseolina* 以往的分类比较混乱, 异名有 17 个之多, 主要有 *M. phaseoli*、*R. bataticola*、*Sclerotium bataticola*、*Botryodiplodia phaseoli*、*Tiarospora phaseolina* 等。目前, *M. phaseolina* 被归属于子囊菌亚门、子囊菌纲、壳孢孢属, 亚纲、目和科地位未确定, 但最近 Crous 等<sup>[15]</sup> 通过分子系统发育研究证明它是葡萄座腔菌科 (Botryosphaeriaceae) 的一个成员。*M. phaseolina* 是壳孢孢属唯一的一个种。因此, 基于田间病害症状、病原菌形态学和分子生物学特征以及对大豆的致病性, 确定引起所鉴定的大豆病害病原菌分离物为菜豆壳孢孢菌 (*M. phaseolina*)。这是首次在我国华北地区报道大豆炭腐病, 也是在国内首次对引起大豆炭腐病原菌进行系统鉴定。

大豆炭腐病主要发生在大豆生殖生长期, 在气温和土壤温度高、气候干旱条件下, 导致大豆植株萎蔫和死亡, 因此, 该病又称干燥天气萎蔫或夏季萎蔫。在灌溉的大豆田, 开花后停止给水加速成熟时, 该病害也可发生。然而, *M. phaseolina* 能够在大豆生育期的任何阶段侵染<sup>[16-18]</sup>, 正常条件下为潜伏侵染, 直至大豆生殖生长的 R7 阶段<sup>[19]</sup>。萌发的种子容易被侵染, 在不利环境条件下, 被侵染种子不萌

发, 或产生有症状或无症状的侵染幼苗。被侵染的幼苗在下胚轴出土部分, 产生红褐色的变色, 或发展成畸形双生茎, 严重时导致子叶和子叶节茎部坏死<sup>[17]</sup>。大豆幼苗期如果通过根侵染, 在地表及地上部变色明显, 变色区呈深褐色至黑色, 在炎热、干燥的条件下, 可导致幼苗死亡。如果潮湿、冷凉的天气持续较长, 被侵染幼苗可转为潜伏侵染, 但在后来的生长季遇到炎热、干燥天气, 症状可以再现和加重。在较后的发育阶段被侵染, 植株一般不表现症状直到生长季节的后期。

*M. phaseolina* 广泛发布于世界各地, 能够侵染 500 多个植物种, 引起植物的炭腐、根腐、茎腐、果腐、叶斑等病害<sup>[1]</sup>。大豆炭腐病是 *M. phaseolina* 引起的最重要的作物病害之一, 在世界主要大豆生产区均有发生。在美国和南美洲的阿根廷、巴西、玻利维亚、巴拉圭等国为害严重<sup>[4]</sup>。2003 年美国因大豆炭腐病造成的大豆产量损失约 200 万 t, 仅次于大豆孢囊线虫的为害<sup>[3]</sup>。在我国, 除大豆外, 已记载的 *M. phaseolina* 寄主有白芷、花生、甜菜、甘蓝、大麻、辣椒、红花、鹰嘴豆、柑桔属种、黄麻属种、香瓜属种、银杏、棉属种、向日葵、洋麻、红波罗花、甘薯、番茄、苜蓿属种、菜豆属种、松属种、李属种、蓖麻、甘蔗、芝麻、茄属种、蜀黍属种、豇豆属种、玉米、冬枣等, 在全国 15 个省、市和自治区有分布<sup>[20]</sup>。但是, 由该菌引起的比较严重的植物病害只有芝麻茎枯病<sup>[21]</sup>、白芷根腐病<sup>[22]</sup>、哈密瓜炭腐病<sup>[23]</sup>、冬枣浆胞病<sup>[24]</sup>等。吕国忠等<sup>[7]</sup> 和李宗乾等<sup>[8]</sup> 曾分别报道大豆炭腐病在辽宁省和山东省个别田块发生为害情况, 但之后再没有大豆炭腐病的相关报道。我国是大豆的起源地, 具有悠久的栽培历史和广大栽培区域, 炭腐病的为害报道极少, 其可能原因是不同生态区栽培大豆品种的生殖生长阶段避开了高温、干旱的气候条件, 抑制了炭腐病的严重发生。这一点在我们调查中得到一些佐证。2007 年中国农业科学院作物科学研究所试验农场大豆资源圃从俄罗斯引进资源炭腐病严重发生, 这些资源均为早熟品种, 发病时期正值开花后期到鼓荚期, 此时也是高温干旱期, 而与俄罗斯资源相邻的我国大豆资源、品种生长正常, 但在收获时调查表明, 一些茎秆上具有银灰色病斑。2005~2008 年间笔者在黑龙江省和北京市大豆生育后期进行病害调查时也发现, 一些相对早熟的大豆品种存在大量茎秆、分枝和叶柄具有银灰色病斑的植株, 部分感病植株存在早衰。这表明, 一些大豆植株在较早时期已被 *M. phaseolina* 侵染, 但一直处于隐症, 直至生育后期才表现。由于大豆炭腐

病为后期病害, 造成的大豆早衰常误以为气候或其他生理原因引起, 因而对大豆的产量影响不被引起注意。目前, 全球气候正在变暖, 高温、干旱的天气越来越多, 大豆炭腐病在我国发生可能具加重的趋势, 应该引起重视, 并加强防治研究。

# 参考文献:

- [ 1 ] Smith G S, Wyllie T D. Charcoal rot[ C ] // Hartman G L, Sinclair J B, Rupe J C. Compendium of Soybean Diseases (4th ed. ). St Paul, MN: The American Phytopathological Society, 1999: 29—31.
- [ 2 ] Gangopadhyay S, Wyllie T D, Luedders V D. Charcoal rot disease of soybean transmitted by seeds[ J ]. Plant Dis Rep, 1970, 54: 1088—1091.
- [ 3 ] Meyer W A, Sinclair J B, Khare M N. Factors affecting charcoal rot of soybean seedlings[ J ]. Phytopathology, 1974, 64: 845—849.
- [ 4 ] Wrather J A, Anderson T R, Arsyad D M, *et al.* Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998[ J ]. Can J Plant Pathol, 2001, 23: 115—121.
- [ 5 ] Wrather J A, Koenning S R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003 to 2005[ J ]. Journal of Nematology, 2006, 38: 173—180.
- [ 6 ] Kunwar I K, Singh T, Machado C C, *et al.* Histopathology of soybean seed and seedling infection by *Macrophomina phaseolina* [ J ]. Phytopathology, 1986, 76: 532—535.
- [ 7 ] 吕国忠, 刘伟成, 白金恺. 大豆炭腐病 ( *Macrophomina phaseolina* ) 在东北地区发生初报[ J ]. 大豆科学, 1991, 10.
- [ 8 ] 李宗乾, 尹逊堂, 刘承忠, 等. 大豆烂根病的发生条件及综合防治技术初探[ J ]. 植保技术与推广, 2003, 23: 21—32.
- [ 9 ] 朱振东, 王晓鸣, 常汝镇, 等. 黑龙江省大豆疫霉菌生理小种鉴定及大豆种质的抗性评价[ J ]. 中国农业科学, 2000, 33: 62—67.
- [ 10 ] Pabon A, Hill C B, Hartman G L. A greenhouse method for screening for resistance to charcoal rot in soybeans [ J ]. Phytopathology, 2006, 96: S88.
- [ 11 ] Thickett K, VanDerWal J, Lovett-Doust L, *et al.* A method

- for screening soybean seedlings for resistance to northern stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. caulivora [ J ]. Can J Plant Sci, 2006, 87: 1—4.
- [ 12 ] 刘少华, 陆金萍, 朱瑞良, 等. 一种快速简便的植物病原真菌基因组 DNA 提取方法[ J ]. 植物病理学报, 2005, 35: 362—356.
- [ 13 ] White T J, Bruns T, Lee S, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [ C ] // Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, *et al.* PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990: 315—322.
- [ 14 ] Babu B K, Saxena A K, Sivastava A K, *et al.* Identification and detection of *Macrophomona phaseolina* by using species-specific oligonucleotide primers and probe[ J ]. Mycologia, 2007, 99: 797—803.
- [ 15 ] Crous P W, Slippers B, Wingfield M J, *et al.* Phylogenetic lineages in *Botryosphaeriaceae* [ J ]. Studies in Mycology, 2006, 55: 235—253.
- [ 16 ] Kunwar I K, Singh T, Machado C C, *et al.* Histopathology of soybean seed and seedling infection by *Macrophomina phaseolina*[ J ]. Phytopathology, 1986, 76: 532—535.
- [ 17 ] Bristow P R, Wyllie T D. *Macrophomina phaseolina*, another cause of the twin-stem abnormality disease of soybean[ J ]. Plant Disease, 1986, 70: 1152—1153.
- [ 18 ] Killebrew J F, Roy K W, Abney, T S. Fusaria and other fungi on soybean seedlings and roots of older plants and interrelationships among fungi, symptoms, and soil characteristics [ J ]. Can J Plant Pathol, 1993, 15: 139—146.
- [ 19 ] Sinclair J B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi[ J ]. Plant Disease, 1991, 75: 220—224.
- [ 20 ] 戴芳澜. 中国真菌总汇[ M ]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [ 21 ] 李丽丽. 我国芝麻病害种类、研究概况及展望[ J ]. 中国油料, 1989( 1 ): 11—16.
- [ 22 ] 张玉方, 徐红梅, 欧阳秩. 白芷炭腐病研究[ J ]. 植物病理学报, 1996, 26( 2 ): 151—152.
- [ 23 ] 王晓东, 李国英. 哈密瓜炭腐病病原鉴定及生物学特性研究[ J ]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2004, 22 ( z1 ): 98—100.
- [ 24 ] 徐 作, 李长松, 李 林, 等. 冬枣浆胞病病原菌鉴定及其防治研究[ J ]. 园艺学报, 2007, 34: 1379—1386.